

## 論文審査の結果の要旨

### Expression profiles and circulation dynamics of rat mesenteric lymph microRNAs

ラット腸間膜リンパ液由来マイクロ RNA の発現様式とリンパ管を介した体内配分

日本医科大学大学院医学研究科 侵襲生体管理学分野

大学院生 倉橋 和嘉子

Molecular Medicine Reports(平成 28 年 掲載予定)

腸間膜リンパ液は小腸から吸収された脂肪、間質からの電解質、蛋白質の輸送、また免疫細胞の循環などを行い、体内の恒常性を維持する役割を担っている。マイクロ RNA は蛋白質をコードしていないノンコーディング RNA の 1 つであり、細胞内において 3' 非翻訳領域に相補的な配列を持つ mRNA に結合し、その翻訳を抑制することで遺伝子ネットワークを制御している。マイクロ RNA はエクソソームなどのマイクロ RNA 輸送体を介して細胞外に放出され、血液などの体液中に存在し、近傍および遠隔の別の細胞に取り込まれ、機能することが報告されている。腸間膜リンパ液中の脂質、電解質、蛋白質などの組成は報告されているが、マイクロ RNA については不明のままであった。申請者はこうした知見に基づき、まず正常ラット腸間膜リンパ液中のマイクロ RNA (リンパマイクロ RNA) の発現様式を定量的 PCR 法に基づくアレイを用いて網羅的に解析した。次に、リンパマイクロ RNA の特徴付けとして、リンパ液中でのマイクロ RNA の安定性を経時的にリアルタイム PCR にて定量解析するとともに、リンパ液中でマイクロ RNA の存在する区画を細胞分画法により解析した。その結果、正常ラット腸間膜リンパ液に 287 種のマイクロ RNA の存在と、21 種のマイクロ RNA に関して血漿に比して優位な発現差異があることを明らかにした。次に、ヒト体液中のマイクロ RNA は安定であるという報告と異なり、ラットのリンパ液と血漿では不安定であることを示した。さらに、エクソソームを含む分画にマイクロ RNA が存在することを確認するとともに、エクソソーム以外の非小胞分画にもマイクロ RNA が存在することを見出した。この結果は、申請者が高度の実験手技を獲得していることのみならず、マイクロ RNA 研究を遂行する優れた力量を持つことを示している。

申請者はさらに、リンパマイクロ RNA の腸間膜リンパ管を経由した血液循環への流入における各臓器への取り込みを解析するために、ラットに発現していない線虫マイクロ RNA を取り込ませたエクソソームを作製し、同エクソソームをラット腸間膜リンパ管本幹より注入し各臓器における線虫マイクロ RNA の取り込み量を定量解析した。その結果、解析した肺、肝臓、脾臓、腎臓の全ての臓器において線虫マイクロ RNA が検出され、特に肺に最も多く取り込まれる新知見を見出した。線虫マイクロ RNA を取り込ませたエクソソームを用いてリンパマイクロ RNA の体内配分を明らかにしようとした着想は、申請者が医学研究を進める上での基礎となる学識を備えていること、ならびに高度に専門的な業務に従事するための研究企画力を有することを示すものであり、十分に評価される。

二次審査では、肺へのリンパマイクロ RNA の集積機序、正常肺および疾患肺（出血性ショック後肺障害）において予測されるリンパマイクロ RNA の役割、虚血再還流モデルラットを用いたマイクロ RNA 研究の展望、リンパマイクロ RNA の臨床応用の可能性などについて質疑がなされ、申請者は、それらに対する的確な回答を示し、発展的議論を行った。

本研究は、リンパマイクロ RNA の特性と肺組織への影響とその機序解明につながる新知見を提供するとともに、リンパマイクロ RNA の臨床応用を目指す研究に新たな道を開く貴重なものであり、申請者が自立した研究者としての資質を備えていることを示している。

以上より、本論文は学位（医学博士）論文として十分に価値あるものと認定した。